

INHIBISI XANTIN OKSIDASE OLEH EKSTRAK DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*)

Nur Candra Eka Setiawan, Ana Nurjanah

Program Studi D-III Farmasi
Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang
E-mail : nuncandra@akfarpim.ac.id

Abstrak

Xantin oksidase adalah enzim yang berperan dalam pembentukan asam urat. Xantin oksidase mengkatalisis hipoxantin menjadi xantin kemudian menjadi asam urat. Tanaman daun salam mampu menurunkan kadar asam urat darah karena mengandung metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, tanin dan minyak atsiri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hambat enzim xantin oleh ekstrak daun salam. Penelitian ini menggunakan metode penelitian ekperimental yang dilakukan di Laboratorium Farmakognosi Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang. Tahap penelitian meliputi, ekstraksi, isolasi enzim, uji aktivitas enzim dan uji daya inhibisi enzim. Pengujian aktivitas penghambatan xantin oksidase menggunakan metode spektrofotometri pada $\lambda 290$ nm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada varian konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm, 50 ppm dan 100 ppm dihasilkan berturut-turut % inhibisinya yaitu 100%, 0%, 100%, 100%, dan 0%. Allopurinol digunakan sebagai kontrol positif dengan varian konsentrasi yang sama dihasilkan % inhibisi 100%, 0%, 0%, 0%, dan 100%. Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak daun salam dengan konsentrasi 5 ppm memiliki % inhibisi sebesar 100% setara dengan allopurinol 5 ppm. Sedangkan pada konsentrasi 100 ppm ekstrak daun salam tidak menunjukkan aktivitas penghambatan yaitu 0%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa daun salam memiliki aktivitas penghambatan enzim xantin oksidase sehingga diharapkan dapat dimanfaatkan sebagai obat alternatif dalam menurunkan asam urat.

Kata-kata kunci: Daun salam, Inhibisi, Xantin oksidase

Abstract

Xanthine oxidase is an enzyme that plays a role in the formation of uric acid. Xanthine oxidase catalyzes hypoxanthine into xanthine and then becomes uric acid. Bay leaf plants can lower blood uric acid level because it contains secondary metabolites such as flavonoid, tannin, and essential oil. This research aimed are to find out xanthine oxidase inhibition by bay leaf extract. This research use experimental research method which done in pharmacognosi of pharmacy of Putra Indonesia Malang. The research include extraction, isolation of xanthine oxidase enzyme, enzyme activity test and enzyme inhibition test. Testing of enzyme activity of xanthine oxidase inhibition using spectrophotometric at $\lambda 290$ nm. The result shows that in variant concentrations of 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm, 50 ppm dan 100 ppm were produced inhibitions is %, 0%, 100%, 100%, 0%. Allopurinol is used as a positive control with the same concentration, the % inhibition is 100%, 0%, 0%, 0%, dan 100%. Based on the result, the bay leaf extract with a concentration of 5 ppm has 100% inhibition equivalent to allopurinol 5 ppm. Concentration 100 ppm of bay leaf extract not show inhibitory activity. The result showed that bay leaf extract has actiivty inhibition of xanthine oxidase , expected to be used as an alternative medicine for uric acid.

Keywords: Bay leaf, inhibition, Xanthine Oxidase

PENDAHULUAN

Asam urat terbentuk dari hasil akhir katabolisme purin yang dibantu oleh enzim xantin oksidase (Darusalam dkk, 2016). Pada proses pembentukan asam urat, xantin oksidase memiliki peranan penting yaitu mengkatalisis berturut-turut hipoxantin menjadi xantin kemudian menjadi asam urat (Haidari *et al*, 2009). Jika kadar purin dalam tubuh meningkat akan memicu kerja enzim

xantin dalam membentuk asam urat. Sehingga asam urat dalam tubuh akan meningkat dan terjadi hiperurisemia (Azmi, 2010).

Penderita asam urat dalam terapinya sering menggunakan obat allopurinol sebagai obat penurun kadar asam urat (Astuti, dan Tjahjono, 2018). Allopurinol bekerja dengan cara menghambat kerja enzim xantin oksidase dalam

membentuk asam urat karena memiliki struktur mirip xantin (Muhtadi dkk, 2015). Xantin merupakan substrat dari Xantin oksidase. Allopurinol memiliki efek samping seperti mual, diare, dan kulit kemerahan disertai gatal, nyeri kepala, serta kerusakan hati dan ginjal (Cendrianti dkk, 2014). Oleh karena itu, perlu adanya alternatif pengobatan yang aman sebagai inhibitor alami xantin oksidase. WHO merekomendasikan penggunaan obat herbal dalam pengobatan penyakit. Penggunaan obat herbal secara umum dinilai lebih aman dibandingkan obat modern.

Salah satu tanaman yang secara empiris dipercaya dapat menurunkan kadar asam urat adalah daun salam (*Syzygium polyanthum*) (Djohari dan Rovi, 2015). Dikalangan masyarakat Indonesia daun salam sudah tidak asing lagi biasanya digunakan untuk penyedap masakan karena aromanya. Selain digunakan untuk penyedap masakan juga dapat digunakan sebagai alternatif obat tradisional. Daun salam dapat digunakan untuk pengobatan kolesterol, diabetes melitus, hipertensi, gastritis dan diare (Djohari dan Rovi, 2015). Daun salam mengandung bahan kimia berupa minyak asiri, tanin, dan flavonoida (Djohari dan Rovi, 2015). Beberapa senyawa antioksidan memiliki potensi sebagai inhibitor xantin oksidase. Flavonoid juga memiliki aktivitas menghambat xantin oksidase karena posisi gugus hidroksilnya lebih mudah menangkap elektron dari sisi aktif xantin oksidase (Yanti dkk, 2016).

Berdasarkan uraian tersebut maka diperlukan metode yang tepat yaitu dengan melakukan maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70% dengan lama perendaman 3 hari. Metode ini memiliki beberapa keuntungan yaitu mampu mengurangi rusaknya senyawa yang terkandung akibat pemanasan (Setiawan dan Febrianti, 2017). Ekstrak etanol yang didapatkan diuji daya inhibisinya terhadap enzim xantin oksidase. Enzim xantin oksidase yang diperoleh dari isolasi susu sapi segar. Kemudian digunakan metode spektrofotometri untuk mengetahui nilai absorbansi. Absorbansi yang diukur merupakan jumlah produksi asam urat. Sehingga didapatkan % inhibisi dari ekstrak daun salam dengan allopurinol.

METODE

Penelitian inhibisi xantin oksidase oleh ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) ini termasuk penelitian ekperimental.

Adapun tahap penelitian sebagai berikut.

1. Determinasi tanaman salam dilakukan di Materia Medika Batu, Jawa Timur
2. Ekstraksi metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Perbandingan 1:5 b/v selama 3 hari dan remaserasi 3 kali selanjutnya dipekatkan menggunakan *vacuum evaporator* dan *waterbath*.
3. Skrining fitokimia ekstrak etanol daun salam
4. Isolasi enzim xantin oksidase dari 250 mL susu sapi segar. Dipanaskan susu sapi segar sebanyak 250 mL hingga suhu 30°C. Ditambahkan 81,68 g NaCl dan disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 30 menit. Supernatan yang diperoleh difraksinasi menggunakan amonium sulfat 40% dan disimpan pada suhu 4°C. Disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 75 menit menggunakan sentrifuge. Supernatan dan residu yang diperoleh digunakan sebagai sampel enzim xantin oksidase. Dilarutkan fraksi residu menggunakan buffer fosfat 0,05 M pH 7,5 hingga 250 mL.
5. Penentuan Aktivitas Xanthine Oksidase (Cendrianti, dkk, 2014). Diambil 200 µl substrat xanthine oksidase dengan konsentrasi 100 µg/ml. Diambil 100 µl xanthine oksidase dicampurkan substrat xantine dengan xantin oksidase dan ditambahkan buffer fosfat pH 7,5 sebanyak 724 µl. Aktivitas xanthine oksidase diukur dengan spektrofotometri pada λ 290 nm. Kecepatan pembentukan asam urat diamati dari menit ke-0 sampai menit ke-40. Data yang diperoleh berupa absorbansi.
6. Metode Uji Inhibisi Ekstrak Daun Salam (Cendrianti, dkk, 2014). Diambil 200 µl substrat xanthine dengan konsentrasi 100 µg/ml. Diambil 100 µl xanthine oksidase dengan konsentrasi 50 mU/ml. Diambil 200 µl larutan uji (ekstrak). Dicampurkan substrat xantine, xantin oksidase dan larutan uji. Ditambahkan buffer fosfat pH 7,5 sebanyak 724 µl. Aktivitas xanthine oksidase diukur dengan spektrofotometri pada λ 290 nm. Kecepatan pembentukan asam urat diamati dari menit ke-0 sampai menit ke-40. Data yang

diperoleh berupa absorbansi. Dengan cara yang sama diujikan pada allopurinol.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil ekstraksi didapatkan ekstrak etanol daun salam berwarna hijau tua hampir beerwarna hitam. Hasil perhitungan rendemen ekstraksi daun salam ditunjukkan pada Tabel 1.

Ekstrak etanol daun salam diuji fitokimia untuk mengidentifikasi senyawa yang terdapat dalam ekstrak. Uji fitokimia yang dilakukan meliputi uji flavonoid, alkaloid, tanin, fenol, saponin, steroid dan triterpenoid. Tabel 2 menunjukkan hasil uji fitokimia dalam ekstrak etanol daun salam adalah flavonoid, saponin, tanin, fenol.

Hasil isolasi enzim xantin oksidase diperoleh residu dan supernatan. Keduanya diuji aktivitasnya dengan cara mengukur absorbansi pembentukan asam urat pada panjang gelombang maksimal 290 nm. Absorbansi yang diukur merupakan jumlah produksi asam urat.

Xantin oksidase akan mengendap pada amonium sulfat 40% (Ernawati, 2014). Aktivitas enzim tertinggi ditunjukkan pada fraksi residu sebesar - 1.10-5 U/mL. Adanya aktivitas enzim pada fraksi supernatan disebabkan karena masih ada enzim yang tidak terendapkan pada amonium sulfat 40%. Aktivitas xantin oksidase dapat dilihat pada Tabel 3 dan kurva uji aktivitas pada supernatan

dan residu dapat dilihat pada Gambar 1 dan 2.

Berdasarkan Tabel 4. pada uji inhibisi xantin oksidase menunjukkan ekstrak daun salam dengan konsentrasi 5 ppm dan % inhibisinya setara dengan allopurinol 5 ppm yaitu 100%. Sedangkan pada konsentrasi 10 ppm % inhibisi pada ekstrak dan allopurinol mengalami penurunan yaitu 0% artinya pada konsentrasi tersebut tidak dapat menghambat kerja xantin oksidase. Selanjutnya pada konsentrasi ekstrak 20 ppm dan 50 ppm % inhibisinya mengalami kenaikan yaitu 100%. Sebaliknya pada konsentrasi yang sama pada allopurinol tidak dapat menghambat xantin oksidase yaitu sebesar 0%. Pada konsentrasi 100 ppm pada ekstrak dihasilkan % inhibisi sebesar 0% sedangkan pada allopurinol sebesar 100%. Daya Inhibisi ekstrak daun salam dapat dilihat pada Tabel 4.

Hasil uji menunjukkan tidak semua varian konsentrasi ekstrak daun salam dan kontrol positif allopurinol memiliki daya inhibisi xantin oksidase. Hal ini dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya konsentrasi enzim, konsentrasi substrat, adanya senyawa inhibitor dan aktivator, pH, dan suhu. Namun, dilihat dari konsentrasi terendah keduanya dapat menghambat sebesar 100%. Sedangkan dilihat dari konsentrasi tertinggi keduanya memiliki perbedaan yaitu pada ekstrak tidak dapat menghambat dan sebaliknya pada allopurinol.

Tabel 1. Rendemen Ekstrak Daun Salam

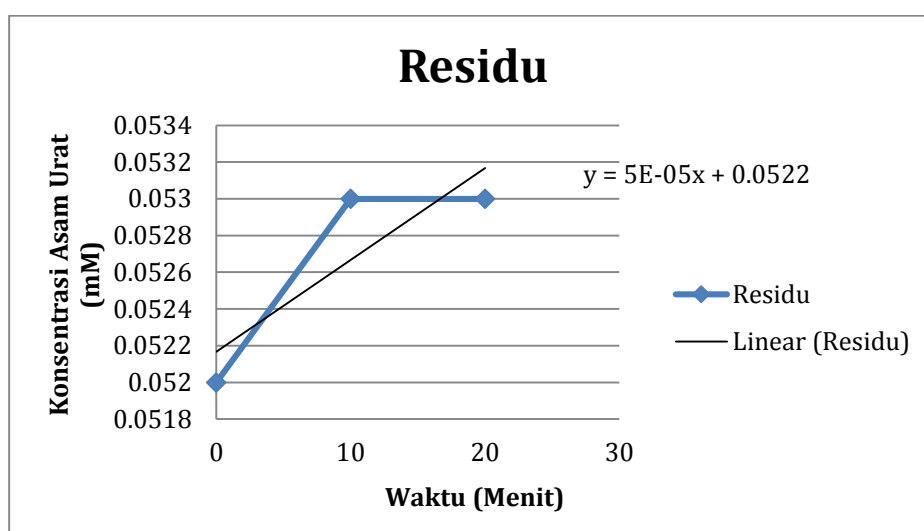
Jenis Pelarut	Massa Sampel (g)	Massa Ekstrak (g)	Rendemen (%)
Etanol 70%	250	33,52	13,41

Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun Salam

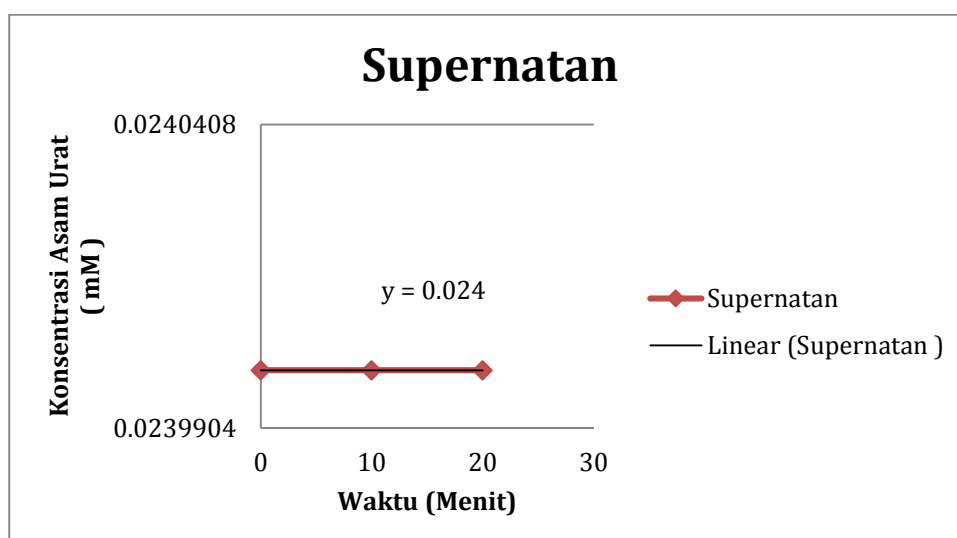
Golongan Senyawa	Hasil Uji
Flavonoid	+
Alkaloid	-
Mayer	-
Wagner	-
Tanin	+
Saponin	+
Fenol	+

Tabel 3. Aktivitas Xantin Oksidase pada fraksi amonium sulfat 40%

Fraksi	Waktu (menit)	Absorbansi	Konsentrasi Asam Urat (mM)	Aktivitas XO (U/mL)
Supernatan	0	0,297	0,024	0
	10	0,295	0,024	
	20	0,299	0,024	
Residu	0	0,635	0,052	0,00005
	10	0,644	0,053	
	20	0,647	0,053	



Gambar 1. Kurva Aktivitas Xantin Oksidase Pada Residu

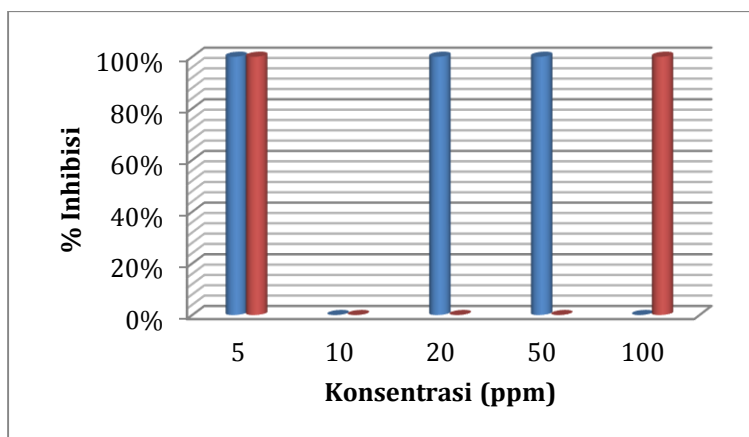


Gambar 2. Kurva Aktivitas Xantin Oksidase Pada Supernatan

Tabel 4. Daya Inhibisi Allopurinol dan Ekstrak Daun Salam

Fraksi	Waktu (menit)	Absorbansi	Konsentrasi Asam Urat (mM)	Aktivitas XO (U/mL)	Daya Inhibisi (%)
Tanpa inhibitor	0	0,325	0,026	0,00005	0%
	10	0,327	0,026		
	20	0,33	0,027		
Ekstrak 5 ppm	0	0,387	0,031	0	100%
	10	0,389	0,031		
	20	0,39	0,031		
Ekstrak 10 ppm	0	0,372	0,03	0,00005	0%
	10	0,373	0,03		
	20	0,377	0,031		
Ekstrak 20 ppm	0	0,331	0,027	0	100%
	10	0,334	0,027		
	20	0,335	0,027		
Ekstrak 50 ppm	0	0,437	0,036	0	100%
	10	0,438	0,036		
	20	0,442	0,036		
Ekstrak 100 ppm	0	0,486	0,04	0,00005	0%
	10	0,493	0,04		
	20	0,503	0,041		
Allopurinol 5 ppm	0	0,367	0,03	0	100%
	10	0,376	0,03		
	20	0,375	0,03		
Allopurinol 10 ppm	0	0,363	0,029	0,00005	0%

	10	0,368	0,03		
	20	0,368	0,03		
Allopurinol 20 ppm	0	0,389	0,031		
	10	0,391	0,032	0,00005	0%
	20	0,394	0,032		
Allopurinol 50 ppm	0	0,285	0,023		
	10	0,289	0,024	0,00005	0%
	20	0,29	0,024		
Allopurinol 100 ppm	0	0,327	0,027		
	10	0,33	0,027	0	100%
	20	0,331	0,027		



Gambar 3. Daya Inhibisi Pada Ekstrak & Allopurinol

KESIMPULAN

Ekstrak daun salam pada konsentrasi 5 ppm mampu menginhibisi sebesar 100% yang setara dengan allopurinol dengan konsentrasi yang sama. Sedangkan pada konsentrasi 100 ppm ekstrak tidak dapat menghambat dengan % inhibisi 0% sebaliknya pada allopurinol daya inhibisinya 100%.

DAFTAR RUJUKAN

- Astuti, Setyo T.W dan Tjahjono ,Hendro Djoko. 2018.
Faktor-faktor Yang Mempengaruhi Kadar Asam Urat (Gout) Pada Laki-laki Dewasa Di

- RT 04 RW 03 Simomulyo Baru Surabaya. *Ejournal stikeswilliambooth* : Surabaya
- Azmi, Ulul. 2010. *Efek Ekstrak Etanol Daging Buah Mahkota Dewa Terhadap Penurunan Kadar Asam Urat Pada Mencit Putih Jantan Yang Diinduksi Potassium Oxonate*. Skripsi. Universitas Muhammadiyah: Surakarta.
- Cendrianti, F., Muslichah, S., dan Ulfa, E.U. 2014. Uji Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak n-Heksana, Etil Asetat, dan Etanol 70% Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) pada Mencit Jantan Hiperurisemia. *e-Jurnal Pustaka Kesehatan*
- Darussalam, Miftafu dan Rukmi, Dwi Kartika. 2016. Peran Air Rebusan Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Dalam Menurunkan Kadar Asam Urat. *Jurnal Ilmu Kesehatan* Vol.5(2).
- Djohari, Meiriza, dan Rovi, Paramitha. 2015. Efektivitas Rebusan Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Terhadap Penurunan Kadar Asam Urat Dalam Darah Mencit Putih Jantan. *Jurnal Pharmacy* Vol.12(2).
- Yanti, RA, Rahayu, TS, dan Syachfitri, DR. 2016. *Uji Aktivitas Penghambatan Xantin Oksidase Secara In vitro Oleh Isolat 6,4-Dihidroksi-4-Metoksibenzofeno-2-O-β-D Glukopiranosida Yang Diisolasi Dari Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa)*. *Pharm Sci Res* Vol. 3 (1): 2407-2354.
- Ernawati, Hari Susanti. 2014. *Penghambatan Aktivitas xanthine Oksidase Oleh Ekstrak Etanol Sarang Semut Secara In Vitro*. *Jurnal Pharmacia* Vol. 4 (1): 15-22.
- Haidari, F.; Shahi, M. Mohammad; Keshavarz, S. A.; Rashidi, M. R. 2009. *Inhibitory Effects of Tart Cherry (Prunus cerasus) Juice on Xanthine Oxidoreductase Activity and its Hypouricemic and Antioxidant Effects on Rats*. *Malaysian Journal of Nutrition* . Vol. 15 Issue 1, p53-64
- Muhtadi, Nurcahyanti Wahyuningtyas, EM Sutrisna, Andi Suhendi, dan Heny Frastyowati. 2015. Uji Penghambatan Xanthine Oksidase Oleh Ekstrak Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis*) Pada Mencit Hiperurisemia. *University Research Colloquium*.
- Setiawan, N.C.E., Febriyanti, A., 2017. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan Fraksi-Fraksi Umbi *Eleutherine palmifolia* (L.) Merr dengan Metode DPPH. *JCPS J. Curr. Pharm. Sci.* 1, 1.